

(Aus dem Kinderspital Basel
[Arbeit unter Leitung von P.-D. Dr. E. Berger, Rhesus-Laboratorium].)

Serologische Befunde bei der Exsanguino-Transfusion

(Ein Beitrag zur Frage der für die
Exsanguino-Transfusion notwendigen Blutmengen)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

H. Zwirn

von Tel-Aviv (Israel)



19

54

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. E. Freudenberg
Tag der Promotion: 18. Juni 1954



Seitdem die Rhesus-Unverträglichkeit als wichtigste Ursache des morbus haemolyticus neonatorum anerkannt und der Nachweis der passiven Übertragung der Antikörper von der Mutter auf den Foetus durch die klassischen Arbeiten von *Levine* u. Mitarb. im Jahre 1941 erbracht werden konnte, hat die Forschung auf dem Gebiete der Therapie dieses Krankheitsbildes neue wichtige Erkenntnisse an den Tag gebracht. So haben alle früheren Behandlungsmethoden mit Transfusionen (nichtdifferenzierten Blutes,

rhesuspositiven Blutes und zuletzt auch rhesusnegativen Blutes) der wirksameren Exsanguino-Transfusion Platz gemacht. Entscheidend für dieses Vorgehen waren folgende Überlegungen und Tatsachen:

1. Durch die Exsanguino-Transfusion wird ein großer Teil der im Serum kreisenden Antikörper, des Bilirubins und anderer toxischer Produkte entfernt und somit einem Parenchymschaden vorgebeugt.

2. Die Überlastung des Kreislaufes durch wiederholte Transfusion wird durch die Austausch-Transfusion weitgehend vermieden.

3. Der Ersatz der fötalen rhesuspositiven Blutkörperchen durch rhesusnegative Erythrocyten entzieht den im Organismus übriggebliebenen Antikörpern den Angriffspunkt für ihre hämolysierende Tätigkeit. Mit andern Worten: der Hämoglobinspiegel kann dadurch für einige Zeit stabilisiert werden.

4. Das rhesusnegative Blut soll vorübergehend eine «Knochenmarkshemmung» bewirken, so daß für eine geraume Zeit rhesuspositive Blutkörperchen, die der Hämolysen anheimfallen könnten, nicht mehr ausgeschwemmt werden (1).

Sind also auch die Gründe der Exsanguino-Transfusion genügend belegt, so bleibt noch die Frage offen, wieviel Blut bei dem Austauschverfahren entzogen bzw. zugeführt werden soll, damit das Blut in ausreichender Menge ersetzt wird. Da die Blutentnahme unter gleichzeitiger Blutzufuhr zu erfolgen hat, kann ein anzustrebender 100%iger Ersatz des Patientenblutes durch Spenderblut nur asymptotisch erreicht werden. Wiener und Wexler (1946) (2, 3) stellten seinerzeit eine Formel auf, die es ermöglichen sollte, den durch das Spenderblut ersetzten Anteil an Pa-

TABELLE I.

Prozentualer Ersatz des kindseigenen Blutes durch Spenderblut (3).

Transfundierte Blutmenge bezogen auf Totalblut des Kindes	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
Spenderblut im Körper des Empfängers in %	38,5 *	62,2	76,7	85,7	91,2	94,6	96,7	98,0

* Berechnet nach der Formel von De Jong $c_n = 1 - \left(\frac{v_c}{v_c + v_s} \right)^n$

tientenblut, bezogen auf das während der Transfusion ausgetauschte Blutvolumen, prozentual zu ermitteln. Vorausgesetzt, daß das normale Blutvolumen eines Kindes von $3\frac{1}{2}$ kg 250 ccm ($\frac{1}{13}$ des Körpergewichtes) beträgt, werden mit 500 ccm 86%, mit 1000 ccm 98% des Patientenblutes ausgetauscht (siehe Tabelle I).

Wiener (1946) (2, 3) setzte ursprünglich auf Grund der klinischen Erfolge die ausreichende Blutmenge auf 500 ccm fest. Auch Diamond (1948) (7) begnügte sich anfangs mit einem Austausch von 500—1000 ccm. Dieser Vorschlag fand allgemein Anklang, und auch im Basler Kinderspital war es bis jetzt üblich, nicht mehr als 750 ccm auszutauschen.

Die Exsanguino-Transfusion als Methode der Wahl ist von keinem Autor angezweifelt worden. Die günstige Wendung, die die Letalität des m. h. n. dank der Exsanguino-Transfusion erfahren hat, veranschaulicht folgende Übersicht der in der Literatur erschienenen Statistiken.

Autor	Jahr	Zahl der Fälle	Letalität	Kernikterus (Tote und Lebende)
Diamond u. Mitarb. (9)	1950	218	11,4%	6,9%
Wiener u. Mitarb. (3)	1950	66	18,2%	
v. Loghem u. Mitarb. (16)	1949	160	18,1%	6%
Mollison u. Mitarb. (15)	1949	30	23,3%	

Es zeigte sich jedoch, daß Lebernekrosen (12) und Kernikterus auch nach der Exsanguino-Transfusion auftraten. Ferner konnte der Anstieg des Ikterusindex nach dem Austausch nicht vermieden werden. Da Wiener (3) annahm, daß diese und andere Organschäden durch intravaskuläre Agglutinate hervorgerufen werden, die durch die sensibilisierten rhesuspositiven Blutkörperchen entstehen sollen, erhöhte er (1948) (5, 6) die zu transfundierende Blutmenge auf 1000 ccm, in der Absicht, die Menge der bei den Neugeborenen vorhandenen rhesuspositiven Blutkörperchen auf 2% des Ausgangswertes zu reduzieren.

Diamond (1950) (9, 10) konnte auf statistischem Wege den Beweis erbringen, daß der Kernikterus um so häufiger auftritt, je stärker der Ikterus war. Er entschloß sich deshalb, bei einem bedeutenden Anstieg des Ikterusindex (innerhalb der 24-Stunden-Grenze nach erfolgtem Austausch) eine zweite Exsanguino-Transfusion vorzunehmen. Die wiederholte Exsanguino-Transfusion führte er ferner bei all denjenigen schweren Fällen aus, die der

Gefahr des Kernikterus ganz besonders ausgesetzt sind, also vor allem bei unreifen Früchten und bei Neugeborenen, deren Mütter einen hohen Antikörpertiter hatten (8, 11).

Abgesehen von den rein theoretischen Überlegungen *Wieners* kann die Unzulänglichkeit einmaliger Transfusionsmengen von 500 ccm durch bessere klinische Erfolge mit größeren Mengen bewiesen werden, wie aus den Arbeiten von *Diamond* (1951) (11) und *Wiener* (1948) (5) hervorgeht. Die Notwendigkeit der Applikation von mehr als 500 ccm bei der Exsanguino-Transfusion geht auch aus unseren serologischen Untersuchungen hervor, über die nachstehend berichtet wird.

Serologische Befunde bei der Exsanguino-Transfusion (13)¹.

Um Aufschluß darüber zu gewinnen, wie weitgehend erstens die rhesuspositiven Blutkörperchen, zweitens die Antikörper zum Verschwinden gebracht werden können und drittens bei welchen Blutmengen der direkte Coombs-Test negativ ausfällt, haben wir systematisch während der Exsanguino-Transfusion den Gehalt an rhesuspositiven Blutkörperchen, den Antikörpertiter und den Umschlag des Coombs-Testes geprüft. Zu diesem Zwecke wurde je eine Blutprobe vor Beginn der Transfusion und fortdauernd nach je 100 ccm transfundierten Blutes entnommen.

Methode.

Für die Bestimmung der Rhesusfaktoren benützten wir Testseren gegen C, D, E, c, während die kindlichen Antikörper in Albuminlösung titriert wurden und der direkte Coombs-Test in der üblichen Weise (15) zur Ausführung kam. Als ein Beispiel für die bei diesem Vorgehen gewonnenen Resultate geben wir in Tabelle II die mit den drei Untersuchungsmethoden während der Austauschtransfusion gewonnenen Befunde wieder. Die Exsanguino-Transfusion wurde wie in allen übrigen Fällen nach *Diamond* ausgeführt. In einigen Fällen wurde der Antikörpertiter noch nach Abschluß der Exsanguino-Transfusion längere Zeit hindurch verfolgt. In der angegebenen Weise wurden im ganzen 31 Fälle untersucht. In Tabelle III sind die Untersuchungsergebnisse dieser 31 Fälle niedergelegt, wobei in jedem einzelnen Fall vermerkt wurde:

¹ Auszugsweise vorgetragen von *E. Berger* auf dem Internationalen Blut-Transfusions-Kongreß in Lissabon 1951.

1. die Menge des ausgetauschten Blutes;
2. die Blutmengen, nach deren Austausch in dem kindlichen Blute die rhesuspositiven Eigenschaften noch nachweisbar oder verschwunden waren;
3. der Antikörpertiter vor und am Ende der Austauschtransfusion, bzw. die Blutmengen, nach deren Austausch keine Antikörper mehr nachweisbar waren;
4. die Blutmengen, nach deren Austausch der direkte Coombs-Test negativ wurde.

TABELLE II.

Mengen	Rh-Antiseren gegen				Rh-Antikörper							Coombs-Test
	C	D	E	c	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64		
vor dem Aust.	+++	++	+++	+++	+	+	+	Ø	Ø	Ø	+++	
nach 100 ccm	++(+)	++	++	+++	++	++(+)	+	Ø	Ø	Ø	++	
nach 200 ccm	++	++	++	+++	+	+	+	Ø	Ø	Ø	+	
nach 300 ccm	++(+)	++(+)	++(+)	++++	++(+)	++(+)	++(+)	+	Ø	Ø	Ø	
nach 400 ccm	+	Ø	+	++++	++	++(+)	+	Ø	Ø	Ø	Ø	
nach 500 ccm	±	Ø	Ø	++++	+	±	±	Ø	Ø	Ø	Ø	
nach 600 ccm	Ø	Ø	Ø	++++	±	±	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	
nach 700 ccm	Ø	Ø	Ø	++++	±	+	±	Ø	Ø	Ø	Ø	

Ergebnisse.

a) Das Verhalten der Blutkörperchen.

In den meisten Fällen (25 Fälle) waren rhesuspositive Blutkörperchen nach dem Austausch nicht mehr nachweisbar. Diese verschwanden in Fall 23 und 28 nach einer Austauschmenge von bereits 300 ccm bzw. bei einem Hydropsfall, aus wissenschaftlichen Gründen ausgetauscht, schon nach 200 ccm (Fall 9).

Dagegen fanden wir in 7 Fällen (1, 3, 6, 15, 19, 21 und 24) rhesuspositive Blutkörperchen nach einem Austausch von über 500 ccm. In Fall 6 persistierten rhesuspositive Blutkörperchen noch nach einem Austausch von 720 ccm!

TABELLE III.

Übersicht der 31 Fälle in bezug auf das Verhalten des Coombs-Testes,
des Antikörpertiters und der rhesuspositiven Blutkörperchen
während der Exsanguino-Transfusion.

Fall	Menge des	rhesusposit.	Antikörpertiter			Dir. Coombs Test	
	Austausches	Blutkörperch.	vor A.	nach A.	neg. nach	vor	nach
	ccm	ccm			ccm		ccm
1	550	+ nach 550	1 : 8	—	380	+	— nach 380
2	650	— nach 650	1 : 16	1 : 8		+	— nach 100
3	540	+ nach 540	1 : 4	—	540	+	— nach 380
4	550	— nach 550	1 : 16	—	100	+	— nach 330
5	700	— nach 700	1 : 32	1 : 8		+	— nach 700
6	720	+ nach 720				+	— nach 200
7	700	— nach 600	1 : 8	1 : 8		+	— nach 300
8	600	— nach 600	1 : 32	1 : 4		+	+ nach 600
9 *	700	— nach 200	1 : 64	1 : 32		+	— nach 200
10 *	680	— nach 400	1 : 16	1 : 16		+	— nach 100
11	640	— nach 640	1 : 16	1 : 16		+	— nach 400
12	650	— nach 650	—	—		+	— nach 400
13	660	— nach 600	1 : 16	1 : 8		+	— nach 500
14	670	— nach 670	—	—		+	— nach 300
15	650	+ nach 650	—	—		+	— nach 400
16	600	— nach 400	—	—		+	— nach 100
17	770	— nach 500	1 : 8	1 : 8		+	— nach 500
17a **	500	—	1 : 4	—	500	—	—
18	600	— nach 500	1 : 64	1 : 16		+	— nach 200
19	590	+ nach 590	—	—		+	— nach 500
20	680	— nach 500	1 : 4	—	400	+	— nach 400
21	600	+ nach 600	—	—		+	— nach 280
22	690	— nach 600				+	— nach 400
23	680	— nach 300	1 : 8	—	680	+	— nach 100
24	600	+ nach 600	—	—		+	— nach 200
25	600	— nach 600	1 : 16	1 : 2		+	+ nach 600
26	900	— nach 600	—	—		+	— nach 200
27	660	— nach 660	1 : 8	—	300	+	— nach 200
28	625	— nach 300	1 : 16	—	400	+	— nach 500
29	500	— nach 500	1 : 8	1 : 4		+	— nach 500
30	700	— nach 600	1 : 4	—	700	+	— nach 300
31	600	— nach 600	1 : 16	—	300	+	— nach 300

* = Hydrops.

** = 2. Austausch.

In einigen Fällen haben wir untersucht, wann die rhesuspositiven Eigenschaften, die infolge der Austauschtransfusion zum Verschwinden gebracht wurden, wieder auftraten. Dabei sahen wir in 2 Fällen (3 und 4), daß das Blut nach 15 bzw. 24 Tagen nach der vorgenommenen Exsanguino-Transfusion wieder rhesuspositive Bestandteile enthielt. In einem anderen Fall (Fall 2) war das Blut noch nach 28 Tagen rhesusnegativ. Andere Autoren (*Mollison*, 15; *Pickles*, 1; und *Wiener*, 3) sahen das Wiederauftreten der rhesuspositiven Eigenschaften erst nach 4—5 Wochen.

b) Das Verhalten der Antikörper.

In Bestätigung der Befunde anderer Autoren (1, 3, 15) fällt auch in unseren Versuchen der Antikörpertiter nicht der Austauschformel entsprechend ab. Durchschnittlich sinkt er auf 70% des Ausgangswertes. Doch konnten wir keine Gesetzmäßigkeit feststellen. Der Bilirubinspiegel, den wir in der Tabelle III nicht eingetragen haben, wurde durchschnittlich auf 25—50% des Ausgangswertes reduziert (5 Fälle).

Was die Dauer des Nachweises der Antikörper anbetrifft, so konnte diese in der Untersuchung eines Falles (Fall 2) bis zu 28 Tagen nachgewiesen werden, in welchem Zusammenhang auf den Befund von *Mollison* (15) hingewiesen werden muß, der freie Antikörper bis zum 60. Tag gefunden hat. Das Nichtverschwinden der Antikörper nach dem Austausch und ihr langes Vorhandensein im Körper spricht dafür, daß diese auch in den Gewebsflüssigkeiten vorhanden sind und von dort durch die Austauschtransfusion ausgeschwemmt werden können.

c) Das Verhalten der Coombs-Probe.

Der Coombs-Test war vor der Austauschtransfusion in allen Fällen positiv. Er wurde mit zwei Ausnahmen negativ, und zwar meistens nach einem Austausch von 300—400 ccm (siehe Tabelle III)². Auffallend ist dabei, daß er schon negativ ausfiel, obgleich noch 1. rhesuspositive Blutkörperchen, 2. freie Antikörper und 3. freie Antikörper und rhesuspositive Blutkörperchen nachgewiesen werden konnten:

² *Kölbl*, 1952 (17) fand den Blocking Test schon nach einer Austauschmenge von 150 ccm negativ.

1. Rhesuspositive Blutkörperchen.

Wie aus Tabelle III ersichtlich ist, geht (in 24 Fällen) dem Verschwinden der rhesuspositiven Eigenschaften das Negativwerden des Coombs-Testes voraus. Durchschnittlich beträgt diese Spanne 200—300 ccm. Aber auch das Umgekehrte wurde beobachtet. So sahen wir in 3 Fällen (Fall 8, 25 und 28), daß der direkte Coombs-Test positiv blieb, obgleich die rhesuspositiven Blutkörperchen bereits verschwunden waren. In den übrigen 4 Fällen (Fall 5, 9, 17 und 29) deckte sich der Umschlag des Coombs-Testes mit dem Negativwerden der Rhesuseigenschaften.

2. Freie Antikörper.

Diese waren in 14 Fällen (Fall 2, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 13, 17, 18, 23, 27, 29, 30) nach dem Umschlag des Coombs-Testes nachweisbar. In 3 Fällen (Fall 1, 20 und 31) richtete sich der Umschlag nach dem Zeitpunkt des Verschwindens der Antikörper, wobei die rhesuspositiven Blutkörperchen immer noch vorhanden waren.

3. Freie Antikörper und rhesuspositive Blutkörperchen, 10 Fälle: 2, 3, 7, 10, 11, 13, 18, 23, 27, 30.

Diese Konstellation ist um so überraschender, als auch die Fälle zahlenmäßig ins Gewicht fallen. Während wir bei 1 und 2 hypothetisch ein Bestehen von nichtsensibilisierten Blutkörperchen anzunehmen berechtigt wären, müssen wir dieser Erklärung bei den in Rubrik 3 angeführten 10 Fällen entsagen.

Es sei darauf hingewiesen, daß bei den Hydropsfällen, Fall 9 und 10, die rhesuspositiven Blutkörperchen rasch verschwinden und der Coombs-Test nach 100 bis 200 ccm zum Negativen umschlägt.

Schlußfolgerung.

Die angeführten Befunde bezeugen die Unzulänglichkeit der Transfusionsmenge von 500 ccm. Mit einem solchen Quantum können weder die Antikörper noch die rhesuspositiven Blutkörperchen entfernt werden, bleiben doch in unseren Fällen 21% nach einer Austauschmenge von 500 ccm positiv (12% nach einem Austausch von 600 ccm). Da die verbleibenden rhesuspositiven Blutkörperchen einer folgenschweren Hämolyse anheimfallen und an die Möglichkeit einer cellulären Antigen-Antikörper-Reaktion gedacht werden muß, ist unsere Therapie dahin zu richten, die Antikörper, die rhesuspositiven Blutkörperchen und das sich eventuell schädlich auswirkende Bilirubin auf das mindeste zu reduzieren.

Durch das Heraufsetzen der Blutmenge auf 750 bis 1000 ccm wird es möglich, die Bilirubinquelle, die die hämolysierten Blutkörperchen darstellen, zu eliminieren. Diese Menge wird auch eine weitere Verarmung an Antikörpern und an Bilirubin herbeiführen. Darin ist wohl der Erfolg *Diamonds* (11) mit wiederholten Exsanguino-Transfusionen zu suchen. Während jedoch Diamond nur eine zweite Transfusion in Kernikterus gefährdeten Fällen vorschreibt (also vor allem bei unreifen Früchten und solchen, die einen hohen mütterlichen Antikörpertiter aufweisen), betrachten wir eine sofortige Exsanguino-Transfusion mit 750 bis 1000 ccm besonders in solchen Fällen als zweckmäßiger, wobei wir eventuell spätere Transfusionen nicht ausschließen. Warum sollten wir auch zuwarten, bis der Ikterusindex ansteigt und wir dem Kind eine zweite Exsanguino-Transfusion, also einen zweiten chirurgischen Eingriff, zumuten, wenn wir diesen Anstieg schon durch die erste Exsanguino-Transfusion mit 750—1000 ccm vermeiden oder wenigstens verringern können, zumal 24 Stunden von größter Bedeutung sein dürften. Diese Empfehlung, die ja auch schon von *Wiener* (3, 5) vorgetragen wurde, dürfte derjenigen von *Diamond* vorzuziehen sein, sofern es die praktischen Verhältnisse zulassen (Aufreiben von Spendern).

Zusammenfassung.

Da nach erfolgter Exsanguino-Transfusion von 500 ccm bei Neugeborenen sowohl die verbleibenden rhesuspositiven Blutkörperchen als auch die persistierenden Antikörper und das Bilirubin einen schädlichen Effekt auf das Gewebe ausüben könnten, muß unsere Therapie dahin gerichtet werden, diese Stoffe auf das möglichste zu reduzieren. *Diamonds* und *Wieners* bessere Resultate mit größeren Transfusionsmengen sind wohl der weiteren Verarmung des Kindes an Antikörpern und an Bilirubin zuzuschreiben, eine Annahme, die noch durch spezielle Untersuchungen erhärtet werden müßte. Diese besseren Resultate und unsere serologischen Daten bei der Exsanguino-Transfusion in 31 Fällen beweisen die Unzulänglichkeit der Blutmengen von weniger als 700 ccm.

Summary.

The possibility exists that after exsanguino-transfusion of 500 c.c. the remaining rhesuspositive blood corpuscles, the persistent antibodies, and the bilirubin may exert an injurious influence on

the tissue. The aim of our therapy must therefore be to reduce these substances to a minimum. *Diamond's* and *Wiener's* better results with larger transfusion amounts are probably due to a further reduction of antibodies and bilirubin in the child's organism, an assumption which should be confirmed by special investigations. These better results and our serological findings in exsanguino-transfusion in 31 cases show the inadequacy of transfusing less than 700 c.c. of blood.

Résumé.

A la suite d'une exsanguino-transfusion de 500 cc. seulement, une action nocive sur les tissus peut continuer à être exercée par les érythrocytes rhésus-positifs restants, de même que par la persistance d'anticorps et par le taux élevé de bilirubine. Pour cette raison notre thérapie doit avoir pour but de réduire ces substances autant que possible. Les résultats meilleurs, obtenus par *Diamond* et *Wiener* avec de plus grandes quantités de sang transfusé, sont probablement attribuables à une diminution plus grande des anticorps et de la bilirubine chez l'enfant. Cette opinion devrait encore être confirmée par des examens spéciaux. Ces résultats meilleurs et nos observations sérologiques dans 31 cas d'exsanguino-transfusion prouvent que des quantités de sang de moins de 700 cc. sont insuffisantes.

Literatur.

1. *Pickles, M. M.*: Haemolytic disease of the Newborn. Oxford 1949. — 2. *Wiener, A. S.*, und *I. B. Wexler*: J. Lab. clin. Med. 31, 1016, 1946. — 3. *Wiener, A. S.*, und *I. B. Wexler*: Erythroblastosis foetalis und Blutaustausch. Thieme-Verlag, Stuttgart 1950. — 4. *Wiener, A. S.*: Amer. J. Dis. Child. 71, 14, 1946. — 5. *Wiener, A. S.*, *I. B. Wexler*, and *A. Shulman*: Amer. J. clin. Path. 18, 2, 1948. — 6. *Wiener, A. S.*, and *I. B. Wexler*: J. Hemat. 4, 1, 1949. — 7. *Diamond, L. K.*: Amer. J. Dis. Child. 75, 47, 1948. — 8. *Diamond, L. K.*, *V. C. Vaughan*, and *F. H. Allen*: Pediatrics, 6, 4, 1950. — 9. *Allen, F. H.*, *L. K. Diamond*, and *V. C. Vaughan*: Amer. J. Dis. Child. 80, 5, 1950. — 10. *Vaughan, V. C.*, *F. H. Allen*, and *L. K. Diamond*: Pediatrics 6, 5, 1950. — 11. *Diamond, L. K.*, *F. H. Allen*, and *W. O. Thomas*: New Engl. J. Med. 244, 39, 1951. — 12. *Rosenblatt, P.*: Amer. J. clin. Path. 18, 700, 1948. — 13. *Berger, E.*: International Blood Transfusion Congress Lisbon, p. 27, 1951. — 14. *Mollison, P. L.*, and *M. Cutbush*: Lancet 2, 522, 1948. — 15. *Mollison, P. L.*, and *M. Cutbush*: Brit. med. J. 1, 123, 1949. — 16. *Van Loghem, J. J.*, et *H. L. Bartels*: Rev. Hémat. 4, 1, 1949. — 17. *Kölbl, H.*: Ann. Paediatr. 179, 100, 1952.